Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 321-334
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۳۳۴-۳۲۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر مثبت سلنیوم بر کاهش تجمع نیترات در اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) و کاهو (*Lactuca sativa* L.)

محبوبه جلالی[۱*]- نگین صالحی چگنی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۰

چکیده

غلظت زیاد نیترات مخصوصاً در سبزیجات برگی، تهدید بزرگی برای سلامت انسان محسوب می‌شود. سلنیوم با تأثیر بر رشد و نمو گیاهان و به خاطر حضور در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، یک عنصر اساسی برای سلامتی انسان است. با این‌حال تاثیر سلنیوم بر تجمع نیترات در سبزیجات هنوز مشخص نیست. به منظور ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر عملکرد، ظرفیت فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آسیمیلاسیون نیتروژن و تجمع نیترات در کاهو (*Lactuca sativa* L.) رقم گریت لیک و اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) رقم سیریوس، آزمایشی با شش سطح سلنیوم (۰، ۰/۱، ۰/۵، ۵، ۱۰ و ۵۰ میکرومول بر لیتر از منبع سلنات سدیم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط هیدروپونیک انجام شد. نتایج نشان داد که کاربرد سلنیوم باعث کاهش غلظت نیترات در هر دو گیاه شد و میزان این کاهش وابسته به غلظت بود. کمترین غلظت نیترات در تیمار ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد. کاربرد سلنیوم از طریق افزایش هدایت روزنه‌ای و میزان کلروفیل باعث افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه شد. غلظت‌های کم سلنیوم (کمتر از ۵ میکرومول بر لیتر)، علاوه بر افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با افزایش فعالیت آنزیم‌های نیترات ریداکتاز، نیتریت ریداکتاز و گلوتامین سنتتاز باعث تحریک آسیمیلاسیون نیترات شد. به طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد سلنیوم تاثیر مثبتی بر کاهش تجمع نیترات در هر دو گیاه از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم نیترات داشت. پیشنهاد می‌شود که غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلنیوم می‌تواند برای کاهش غلظت نیترات و افزایش عملکرد کاهو و اسفناج در کشت هیدروپونیک استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آسیمیلاسیون نیتروژن، ظرفیت فتوسنتزی، سلنیوم، نیترات

مقدمه

نیتروژن در ساختمان اسیدهای آمینه، بازهای پورینی، آلکالوئیدها و کلروفیل وجود دارد. مقدارنیتروژن مورد نیاز گیاه به نوع گونه گیاهی و خاک بستگی دارد. این عنصر به دو شکل آمونیم و نیترات جذب گیاه می‌شود. گیاهان عمدتاً یون نیترات را جهت جذب ترجیح می‌دهند (۹). نیترات به عنوان مهمترین منبع تامین نیتروژن، به طور گسترده‌ای در تولید سبزیجات، مخصوصا در سیستم کشت هیدروپونیک مورد استفاده قرار می‌گیرد.

به طور کلی سبزیجات برگی مثل اسفناج و کاهو نسبت به سبزیجات میوه‌ای و دانه‌ای تجمع نیترات بیشتری دارند. نیترات در بدن انسان بالغ به نیتریت تبدیل شده و در ترکیب با آمین‌ها، به نیتروزآمین تبدیل شده که از عوامل اصلی ایجاد سرطان می‌باشد. به دلیل اثرات سوء نیترات بر سلامتی انسان، امروزه توجه زیادی به تجمع این یون در سبزیجات شده است و به عنوان یک شاخص بیولوژیک کیفی در سبزیجات در نظر گرفته شده است (۶). سبزیجات در بسیاری از کشورهای جهان به دلیل ارزش غذایی فراوانی که دارند، از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشند و تقریباً ۸۵ درصد نیترات موجود در رژیم غذایی انسان از طریق مصرف سبزیجات، مخصوصا سبزیجات برگی مثل اسفناج و کاهو می‌باشد (۳۲).

از سال ۱۹۵۷ سلنیوم به خاطر حضور در سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی مثل آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و تعادل هورمونی به عنوان یک مادهٔ اساسی برای سلامتی انسان و حیوان شناخته شد که می‌تواند نقش یک آنتی اکسیدانت را در گیاهان بازی کند (۳۷). برخلاف سایر عناصر، محدوده بین کمبود (کمتر از ۴۰ ماکروگرم در روز) و سیمت (بیشتر از ۴۰۰ ماکروگرم در روز) این عنصر بسیار باریک است (۲۱). سلنیوم نمی‌تواند به طور مستقیم به غذا افزوده شود،

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: jalali.mah@lu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.85540

لذا غلظت سلنیوم در گیاهان می‌تواند به روش‌های مختلفی از جمله اضافه کردن سلنیوم به خاک، خیساندن بذور در محلول سلنیوم قبل از کشت، کشت‌های هیدروپونیک در محلول غذایی حاوی ترکیبات سلنیوم و کاربرد محلول‌پاشی گیاهان با محلول سلنیوم، افزایش داد (۴).

نشانه‌هایی وجود دارد که سلنیوم ممکن است روی بیوسنتز گلیکوآلکالوئیدها، کلروفیل (۲۷) و آسیمیلاسیون نیتروژن (۱) موثر باشد. شواهد نشان می‌دهد که غلظت‌های کم سلنیوم باعث افزایش رشد و مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها می‌شود اگرچه هنوز به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد گیاه شناخته نشده است (۲۸). همچنین سلنیوم به طور قابل توجهی محتوای کلروفیل را بالا می‌برد و این افزایش در کل محتوای کلروفیل می‌تواند در طی افزایش محتوای کارتنوئید باشد، چرا که کارتنوئیدها کلروفیل را از تخریب اکسیداسیون نوری حفاظت می‌کنند (۲۲). نتایج بررسی‌ها بر روی سبزیجات برگی نشان داده است که تیمارهای سلنیومی بر روی غلظت عناصری مثل نیترات اثرگذار بوده و باعث افزایش نیترات گردیده است (۲۲).

در گیاهان اگر جذب نیترات توسط گیاه بیشتر از میزان متابولیک آن باشد، نیترات در گیاه تجمع می‌یابد. مطالعات قبلی نشان داده که افزودن سلنیوم به گیاهان می‌تواند بر متابولیسم نیتروژن در گیاهان تاثیر گذار باشد و این تاثیر بستگی به میزان غلظت سلنیوم دارد (۳ و ۲۹). سلنیوم بر جذب و انتقال تعدادی از عناصر نقش دارد (۴۰). با این حال اطلاعات کمی در مورد تاثیر سلنیوم بر جذب و انتقال نیترات در گیاه وجود دارد.

کاربرد سلنیوم می‌تواند باعث افزایش میزان فتوسنتز گیاهان مخصوصا تحت تنش‌های مختلف شود (۱۱). در واقع یکی از مهمترین عوامل موثر بر میزان تجمع نیترات در گیاهان میزان فتوسنتز است. تجمع نیترات در گیاهان ارتباط مستقیمی با میزان کربوهیدرات‌های گیاه دارد که در طی فرایند فتوسنتز تولید می‌شود (۲). از آنجا که این محصولات می‌توانند کربن و انرژی مورد نیاز برای کاهش میزان نیترات را در گیاه فراهم کنند (۲)، بنابراین فرض بر این است که علاوه بر القای فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم نیتروژن، کاربرد سلنیوم از طریق حفظ ظرفیت فتوسنتزی و تنظیم جذب و انتقال نیترات به طور مثبتی باعث کاهش نیترات در گیاه می‌شود. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر کاربرد سلنیوم بر تجمع نیترات، فعالیت آنزیم‌های آسیمیلاسیون نیتروژن و میزان فتوسنتز در اسفناج و کاهو در شرایط هیدروپونیک بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در محیط کنترل شده گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان اجرا گردید. بذور کاهو رقم گریت لیک و اسفناج رقم سیریوس را به منظور جوانه زنی در ظروف پتری در دمای آزمایشگاه قرار داده و پس از جوانه زنی، گیاهچه‌ها به لیوان‌های پلاستیکی و در مرحله چهار برگی به گلدان‌های بزرگ‌تر که هر دو حاوی پرلیت (مخلوط دانه ریز و درشت) بودند، منتقل شدند. زمانی که گیاهان به حد مناسبی از رشد رسیدند (مرحله چهار برگی)، به سیستم فلوتینگ انتقال یافتند. در این سیستم ریشه‌های گیاهان در محلول غذائی شناور بوده و بستر کشتی استفاده نمی‌شود. محلول غذایی تغییر یافته هوگلند تهیه و به مقدار ۸ لیتر به هر ظرف اضافه شد. محلول غذایی هوگلند تغییریافته شامل ترکیبات تشکیل دهنده زیر(بر اساس میلی‌گرم در لیتر) بود: نیتروژن (۲۲۴)، پتاسیم (۲۳۵)، کلسیم (۱۶۰)، فسفر (۱۶۰)، گوگرد (۳۲)، منیزیم (۲۴)، فسفر (۶۲)، کلر (۱/۷۷)، بور (۰/۲۷)، منگنز (۰/۱۱)، روی (۰/۱۳)، مس (۰/۰۳)، مولیبدن (۰/۰۵)، آهن (۱).

پس از ظاهر شدن ریشه‌های جدید در محلول غذائی، تیماردهی انجام گرفت و سلنیوم با غلظت مورد نظر به گلدان‌های حاوی محلول غذایی افزوده شد. تیمار سلنیوم با استفاده از نمک سلنات سدیم (Na_2SeO_4) (مرک، آلمان) به جرم مولکولی ۱۸۹ گرم تهیه شد. تیمارها بر اساس میکرومول در لیتر محاسبه شدند که شامل صفر، ۰/۱، ۰/۵، ۵، ۱۰ و ۵۰ میکرومول در لیتر بود که محلول سلنیوم با غلظت بالا به صورت محلول پایه تهیه و به محلول‌های غذایی جهت به دست آمدن غلظت مورد نظر اضافه و روزانه با اضافه نمودن محلول غذایی تازه، کاهش محلول داخل ظرف به صورت مشاهده‌ای جبران گردید. در واقع غلظت صفر سلنیوم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

دما و رطوبت گلخانه در طول مدت آزمایش ۴±۲۶ درجه سلسیوس و ۷۰ درصد رطوبت نسبی حفظ گردید. pH محلول غذایی با افزودن ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر در لیتر اسید فسفریک و ۰/۰۶۲ میلی‌لیتر در لیتر اسید نیتریک، در محدوده ۶/۵-۶/۴ تنظیم شد. هدایت الکتریکی (EC) محلول نیز در محدوده ۲/۴-۲ میلی موس بر سانتی متر تنظیم شد. هدایت الکتریکی و pH محلول‌های غذایی به صورت هفتگی کنترل می‌شد و با توجه به شدت نور، محلول غذایی حداکثر تا یک هفته تعویض کامل می‌شد. برای تهویه محلول غذائی از پمپ های هوا استفاده گردید.

برداشت گیاهان و اندازه گیری عملکرد

بعد از چهل روز از تیماردهی، گیاهان برداشت شدند. صفات ریخت شناسی مورد بررسی در این آزمایش وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی بود. وزن خشک ریشه و اندام هوایی نیز با قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پارامترهای فتوسنتزی

شاخص سبزینگی برگ با دستگاه کلروفیل‌متر (مدل -SPAD 502، شرکت Konica Minolta، ژاپن) اندازه‌گیری و عدد حاصل از میانگین چهار تکرار در هر تیمار، ثبت شد. هدایت روزنه‌ای با دستگاه فتوسنتزمتر (مدل LCI-ADC.CO.UK ، England) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری نیترات اندام خوراکی گیاه

ابتدا نمونه‌ها خرد شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در دستگاه خشک کن تا رسیدن به وزن ثابت قرار داده شدند. غلظت نیترات در نمونه‌های خشک و آسیاب شده با استفاده از روش دی‌آزو (۳۸) که بر پایه احیای نیترات به نیتریت در مجاورت پودر روی و یون هیدروژن است تعیین شد. به این صورت که یون‌های نیتریت ایجاد شده با نمک سولفانیل آمید تولید ترکیبات دیازنوم می‌کنند که در مجاورت ان (۱- نفتیل) اتیلن دی آمین، کمپلکس آمینوآزو ایجاد می‌شود. شدت رنگ کمپلکس رنگی در طول موج ۵۴۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر مدلRayleigh UV-1601 اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آسیمیلاسیون نیتروژن

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، تکه‌های تازه نمونه‌ها همراه با محلول عصاره‌گیری با نسبت ۱ به ۵ جرمی- حجمی در دمای صفر درجه سلسیوس توسط آسیاب خرد شدند. محلول عصاره‌گیری شامل محلول فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار بافر شده در pH برابر با ۷/۵ و محتوی ۲ میلی‌مولار EDTA ، ۱/۵ درصد کازئین محلول، ۲ میلی‌مولار دی تیوتریتول (DTT) و یک درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون (PVP) بود. مخلوط حاصل صاف شده و به مدت ۵ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول صاف رویی مجددا به مدت ۲۰ دقیقه و ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا شده و فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز، نیتریت ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در این عصاره اندازه‌گیری شد (۲۰ و ۴۱).

اندازه‌گیری آنزیم نیترات ریداکتاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ به روش پیشنهادی استوارت و همکاران (۴۱) با استفاده از سولانیلیک اسید محلول در اسید کلریدریک ۲ نرمال و محلول نفتیل اتیلن دی آمید (۰/۰۲ درصد) و اندازه‌گیری میزان جذب نیتریت در طول موج ۵۴۰ نانومتر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV-2100 شرکت شرکت UNICO) کشور امریکا انجام شد. برای تهیه منحنی استاندارد از نیتریت سدیم استفاده شد .

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز

فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز بر اساس میزان کاهش غلظت نیتریت در محیط واکنش اندازه‌گیری شد. غلظت نیتریت پس از انکوباتور کردن محلول بالا در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه، به روش رنگ‌سنجی و پس از تشکیل کمپلکس آزو با سولفانیل آمید و ان یک نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز نیز بر مبنای مقدار نیتریت کاسته شده در هر گرم بافت گیاهی تازه در دقیقه بیان شد (۲۰).

اندازه‌گیری آنزیم گلوتامین سنتتاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز، ۱/۲ میلی‌لیتر مخلوط بافر تریس-اسیدهیدروکلریک ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.6)، آدنوزین دی فسفات ۱ میلی‌مولار، گلوتامین ۵۰ میلی‌مولار، کلرید منیزیم ۲۰ میلی‌مولار، آرسنات سدیم ۲۰ میلی‌مولار، به عصاره آنزیم افزوده و واکنش با اضافه کردن هیدروکسیل آمین ۱۳ میلی‌مولار شروع شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری و سپس ۱/۸ میلی‌لیتر محلول سولفات آهن-اسید سولفوریک و ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول مولیبدات آمونیوم-اسید سولفوریک به عنوان متوقف کننده به آن اضافه شد. به منظور رسوب پروتئین‌های گیاهی، نمونه ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. مقدار جذب محلول رویی در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲۰).

تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه تازه با یک میلی‌لیتر از بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار و ترایتون یک درصد همگن شد و به مدت یک ساعت در یخچال نگهداری شد و پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ در دمای ۴ درجه سلسیوس با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. محلول صاف رویی جهت تعیین فعالیت آنزیم جداسازی شد. جهت تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با روش نیکل و کانینگهام، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با ۳ میلی‌لیتر بافر قرائت حاوی گایاکول ۲۵ میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار مخلوط شده و شدت جذب نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر در این محلول توسط دستگاه طیف‌سنج در زمان صفر و ۷۰ ثانیه اندازه‌گیری شد (۲۵).

تجزیه‌های آماری

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. داده‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و رسم نمودارها با توسط نرم‌افزار EXCEL 2007 انجام گرفت. بررسی معنادار بودن داده‌ها با کمک

آزمون LSD و در سطح $p\leq ۰/۰۵$ صورت گرفت.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی

نتایج آنالیز واریانس اثر معنی‌دار تیمار سلنیوم بر وزن تر ریشه کاهو، وزن تر اندام هوایی اسفناج، وزن خشک ریشه کاهو، وزن خشک اندام هوایی کاهو، وزن خشک اندام هوایی اسفناج، هدایت روزنه‌ای کاهو و اسفناج (سطح ۰/۰۵) و وزن تر اندام هوایی کاهو، وزن خشک ریشه اسفناج، شاخص کلروفیل کاهو و شاخص کلروفیل اسفناج (سطح ۰/۰۱) را نشان می‌دهد (جدول ۱). همچنین تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در وزن تر ریشه اسفناج مشاهده نشد.

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس تیمار سلنیوم بر وزن تر ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، شاخص کلروفیل و هدایت روزنه‌ای کاهو و اسفناج

Table 1- ANOVA for selenium treatment effects on fresh weight of root and shoot, dry weight of root and shoot, chlorophyll index and stomatal conductance in lettuce and spinach

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)					
		وزن تر ریشه کاهو Root fresh weight of lettuce	وزن تر ریشه اسفناج Root fresh weight of spinach	وزن تر اندام هوایی کاهو Shoot fresh weight of lettuce	وزن تر اندام هوایی اسفناج Shoot fresh weight of spinach	وزن خشک ریشه کاهو Root dry weight of lettuce	وزن خشک ریشه اسفناج Root dry weight of spinach
تیمار سلنیوم Selenium treatment	5	0.98*	1.88ns	2.33**	0.026*	10.8*	1.325**
خطا Error	12	0.53	0.27	0.078	0.052	4.35	0.053
ضریب تغییرات CV (%)	-	9.21	8.73	15.36	7.84	21.34	15.57

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)					
		وزن خشک اندام هوایی کاهو Shoot dry weight of lettuce	وزن خشک اندام هوایی اسفناج Shoot dry weight of spinach	شاخص کلروفیل کاهو Chlorophyll index of lettuce	شاخص کلروفیل اسفناج Chlorophyll index of spinach	هدایت روزنه ای کاهو Stomatal conductance of lettuce	هدایت روزنه ای اسفناج Stomatal conductance of spinach
تیمار سلنیوم Selenium treatment	5	1.27*	0.11*	96.45**	0.019**	3.96*	11.21*
خطا Error	12	0.036	0.006	14.57	2.73	15.12	2.31
ضریب تغییرات CV (%)	-	9.21	9.21	7.47	20.56	17.34	18.25

ns: عدم معنی‌داری، **: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و * اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

ns: non-significant, **: significant at 1% of probability level, *: significant at 5% of probability level.

تاثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی اسفناج و کاهو در جدول ۲ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر، کمترین و بیشترین میزان بیومس در هر دو گیاه به ترتیب در تیمارهای ۵۰ و ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد. در مقایسه با شاهد، غلظت‌های بیشتر از ۵ میکرومول بر لیتر تاثیر منفی بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی داشت.

جدول ۲- وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی در اسفناج و کاهو تحت غلظت‌های مختلف سلنیوم

Table 2- The fresh and dry weight of root and shoot of spinach and lettuce under different concentration of exogenous selenium treatments

غلظت سلنیوم Selenium concentrations (µmol L^{-1})	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)		وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	
	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach
0	6.2±0.07ab	6.1±0.32a	174.3±6.3c	144.5±11.2bc
0.1	6.6±0.38ab	5.9±0.56a	178.1±10.7bc	158.2±15.5b
0.5	6.5±0.61ab	6.2±0.49a	189.2±12.2b	165.4±8.5b
5	7.3±0.26a	6.6±0.62a	214.2±10.3a	196.7±14.1a
10	5.9±0.51ab	5.9±0.64a	190.4±15.6b	192.4±7.6a
50	4.9±0.58b	6±0.41a	168.6±13.8d	157.1±9.4b
غلظت سلنیوم Selenium concentrations (µmol L^{-1})	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)		وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	
	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach
0	0.34±0.02a	0.35±0.04b	10.12±1/0c	9.97±0.8bc
0.1	0.37±0.03a	0.39±0.05ab	12.01±1.2b	10.95±1.3b
0.5	0.36±0.05a	0.41±0.06ab	11.9±1.3b	11.09±1.1b
5	0.39±0.03a	0.46±0.06a	13.39±1.5a	13.21±1.4a
10	0.29±0.04b	0.33±0.01b	11.86±0.8b	10.89±1.3b
50	0.27±0.01bc	0.3±0.03c	8.39±0.5d	9.22±0.9c

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p\leq0.05$) بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($p\leq0.05$) based on LSD test.

با افزایش غلظت سلنیوم، وزن تر اندام هوایی در هر دو گیاه ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. بیشترین وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاه در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر و کمترین مقدار آن در غلظت ۵۰ میکرومول بر لیتر مشاهده شد (جدول ۱). سطوح مختلف سلنیوم تاثیر معنی‌داری بر وزن تر ریشه در اسفناج نداشت، اما در کاهو، در سطح ۵۰ میکرومول بر لیتر، وزن تر ریشه نسبت به سطح ۵ میکرومول بر لیتر کاهش معنی‌داری نشان داد.

کاهش وزن تر گیاه با افزایش غلظت سلنیوم در مطالعات قبلی نیز تایید شده است (۲۲). احتمالا برهمکنش سلنات با پلاسمالما و تغییر در نفوذپذیری غشا نسبت به برخی یون‌ها (پتاسیم، سدیم و کلسیم) بر طویل شدن گیاه، تنفس، جذب آب و تخلیه از آوندهای آبکش تاثیرگذار است. همچنین سلنیوم با تشکیل اسیدهای آمینه سلنیوم‌دار، موجب افزایش تولید اتیلن و در نتیجه تغییر ترکیب لیپیدهای غشایی، افزایش نفوذپذیری غشا و نشت پتاسیم می شود که نتیجه آن افزایش آب در فضای بین سلولی و افزایش وزن تر بافت است (۱۰). صفاریزدی و همکاران (۳۱) دریافتند که تاثیر مثبت سلنیوم بر وزن تر گیاه اسفناج بدلیل تاثیر این عنصر بر سنتز کلروفیل، تثبیت کربن، سنتز و هیدرولیز نشاسته و تحریک تقسیم سلولی است.

کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در وزن خشک ریشه بین غلظت ۵۰ و ۵ میکرومول در لیتر، در هر دو گیاه مشاهده شد. در اسفناج، وزن خشک ریشه در سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و با شاهد در اسفناج نداشت. بیشترین وزن خشک اندام هوایی در هر دو گیاه اسفناج و کاهو، در تیمار ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد و با افزایش غلظت، وزن خشک اندام هوایی شروع به کاهش نمود (جدول ۱).

بررسی‌های قبلی در گیاهان لوبیا (۱۸)، کاهو (۲۳)، خیار (۱۹) و فلفل (۳۶) نشان داده که غلظت‌های کم سلنیوم موجب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان شده ولی با افزایش غلظت سلنیوم این صفات کاهش یافتند. همچنین تیمار سلنیوم با غلظت‌های بین ۵۰-۵ میکرومول بر لیتر باعث افزایش ۴۴ درصدی رشد ذرت شد (۱۷). همچنین تاثیر مثبت غلظت‌های بیشتر سلنیوم (۱۰۰- ۵۰ ماکرو مول بر لیتر) بر ارتفاع و وزن خشک کلم بروکلی بوسیله تکدا و همکاران (۴۲) نشان داده شده است.

کاهش پروتئین و بیومس گیاه که در اثر افزایش غلظت سلنیوم در گیاهان مختلف گزارش شده است به دلیل کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی است (۷). در مقابل غلظت‌های کم سلنیوم، احتمالا از طریق افزایش میزان کلروفیل و متعاقب آن فتوسنتز و تثبیت کربن و در نتیجه تجمع نشاسته در کلروپلاست‌ها، رشد گیاه را افزایش داده و به دلیل آنتی‌اکسیدان بودن از غشا سلولی این گیاهان در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند (۱۴). جاهید و همکاران (۱۸)

نشان دادند که احتمالا سلنیوم با فراتنظیمی آنزیم‌های دخیل در سنتز و هیدرولیز ساکارز (اینورتاز، ساکارز سنتتاز و ساکارز فسفات سنتتاز) و آنزیم‌های هیدرولیز کننده نشاسته (آمیلازها) میزان تولید نشاسته و ساکارز را افزایش داده، از این طریق سوبستراهای لازم برای رشد و افزایش بیومس گیاه را فراهم می کنند.

اثر سلنیوم بر ویژگی‌های فتوسنتزی

تاثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر پارامترهای فتوسنتزی کاهو و اسفناج در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تاثیر سلنیوم بر پارامترهای فتوسنتزی کاملا به غلظت وابسته است. مقایسه میانگین مشاهدات نشان داد که با افزایش غلظت سلنیوم، میزان کلروفیل، هدایت روزنه‌ای برگ‌ها ابتدا افزایش و سپس در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر شروع به کاهش کرد (جدول ۳). در اسفناج تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در میزان کلروفیل و هدایت روزنه‌ای بین غلظت ۱۰ و ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده نشد. اما در کاهو این تفاوت معنی‌دار بود. به طور کلی میزان کلروفیل در کاهو در تمام تیمارها بیشتر از اسفناج بود. بهترین غلظت در مورد ظرفیت فتوسنتزی در هر دو گیاه ۵ میکرومول بر لیتر بود که خود این موضوع می‌تواند تغییرات مشابه در وزن خشک ریشه و اندام هوایی را در تیمارهای مختلف توضیح دهد.

بررسی‌های انجام شده در زمینه تأثیر سلنیوم بر مقدار کلروفیل در گیاهانی مانند اسفناج (۳۵)، خردل (۳۹) و چای (۳۴) نیز موید نتایج ذکر شده است. سلنیوم در غلظت‌های کم با محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی، بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی را افزایش می‌دهد. اما با افزایش غلظت سلنیوم، این عنصر، آنزیم‌های بیوسنتز کننده کلروفیل (مانند پورفوبیلینوژن سنتتاز) را مهار کرده، با گروه سولفیدریل موجود در آنزیم های ۵-آمینولوولینیک اسید دهیدراتاز[1] و دآمیناز پورف بیلیجن[2] بر هم کنش می کند و از این طریق تاثیر منفی بر سنتز کلروفیل می‌گذارد (۱۶).

جرم و همکارن (۲۰۰۷) نشان دادند که سطوح بالای سلنیوم تاثیری بر فتوسیستم II نداشته و احتمالا از مسیر دیگری موجب کاهش میزان فتوسنتز می‌شود، اما غلظت‌های کم سلنیوم راندمان فتوشیمیایی فتوسیستم II را افزایش می‌دهد (۱۳). همچنین غلظت‌های بالای سلنیوم در کلرلا، با تاثیر بر نفوذپذیری غشا و فراساختار کلروپلاست، موجب پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش میزان فتوسنتز می‌شود (۷). احتمالا جانشین شدن سلنیوم در غلظت‌های زیاد به جای منیزیم موجود در ساختار کلروفیل نیز یکی از مکانیسم‌های آسیب به کلروفیل می‌باشد (۲۷). حدود یک درصد از غشاهای کلروپلاستی را سولفولیپیدها تشکیل می‌دهند. احتمالا جانشینی یون سلنیوم به جای گوگرد در ساختار این لیپیدها موجب تغییر ساختمان و عمل این ترکیبات شده، سنتز غشاهای تیلاکوئیدی و در نتیجه فتوسنتز را مهار می‌کند.

هاوریلک و همکاران (۱۶) گزارش کردند که کاربرد سلنیوم باعث افزایش محتوای کلروفیل و همچنین کارتنوئید در کاهو می گردد. شارما و همکاران (۳۵) نیز گزارش کردند که تجمع سلنیوم در برگ منجر به افزایش معنی‌دار در کلروفیل می‌گردد. همچنین، میزان بالای کلروفیل در اسفناج و گوجه فرنگی که با ۵ میکرومول سلنیوم تیمار شده بود مشاهده گردید (۱۶). همچنین کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم در محلول غذایی کاهو، در جلوگیری از تخریب کلروفیل موثر است ولی کاربرد غلظت‌های بالای سلنیوم (۴۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب کاهش در محتوای کلروفیل در کاهو می‌گردد (۲۴).

غلظت نیترات

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که غلظت نیترات کاهو، فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز و فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز (سطح ۰/۰۱) و غلظت نیترات اسفناج، فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز کاهو و اسفناج، فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز اسفناج، فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز اسفناج و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کاهو و اسفناج (سطح ۰/۰۵) در تیمارهای مختلف کودی سلنیوم دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند (جدول ۴).

غلظت نیترات در برگ‌های هر دو گیاه با افزایش غلظت سلنیوم ابتدا کاهش و سپس افزایش معنی‌داری را نشان داد. سطح ۵۰ میکرومول بر لیتر سلنیوم بالاترین میزان غلظت نیترات را در برگ‌های کاهو و غلظت صفر (تیمار شاهد) بیشترین غلظت نیترات را در اسفناج نشان داد. در هر دو گیاه، کاهش معنی‌دار غلظت نیترات در تیمار ۵ میکرومول بر لیتر نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد (شکل ۱). تقریبا در تمام تیمارها، غلظت نیترات در اسفناج بیشتر از کاهو بود. لی و همکاران (۲۲) نشان دادند که سلنیوم باعث کاهش انتقال نیترات از ریشه‌ها به برگ‌های کاهو شده و در نتیجه باعث کاهش تجمع نیترات در برگ‌های این گیاه می‌شود. مالورگیو و همکاران (۲۴) گزارش کردند که در کاهو کاربرد سلنیوم در محلول غذایی منجر به افزایش در غلظت نیترات برگ در گیاهان پرورش یافته در پاییز و زمستان گردید ولی کاربرد سلنیوم در غظت‌های بالا موجب کاهش در غلظت نیترات گردید.

1- 5-acid-dehydratase
2- Deaminase porfobilinogen

جدول ۳- شاخص کلروفیل و هدایت روزنه‌ای در اسفناج و کاهو تحت غلظت‌های مختلف سلنیوم

Table 3- The chlorophyll Index and stomatal conductance under different concentration of exogenous selenium

غلظت سلنیوم Selenium concentrations (µmol L^{-1})	شاخص سبزینگی SPAD		هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance (mol m^{-2} s^{-1})	
	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach
0	12.97±1.27d	11.88±1.4d	0.09±0.01e	0.07±0.00d
0.1	17.1±1.35c	14.16±1.13c	0.15±0.02b	0.11±0.02c
0.5	17.33±1.13c	16.12±1.29b	0.13±0.01c	0.15±0.01b
5	24.53±1.15a	21.1±1.16	0.2±0.03a	0.18±0.03a
10	20.9±1.41b	19.94±1.7a	0.16±0.02b	0.16±0.01ab
50	16.33±1.3cd	14.92±1.2bc	0.11±0.01d	0.08±0.01d

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns based on LSD test ($p \leq 0.05$).

جدول ٤- تجزیه واریانس تیمار سلنیوم بر غلظت نیترات، فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز، فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز، فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کاهو و اسفناج

Table 4- ANOVA for selenium treatment on nitrate concentration, nitrate reductase activity, nitrite reductase activity, on glutamine synthetase activity and glutathione peroxidase activity in lettuce and spinach

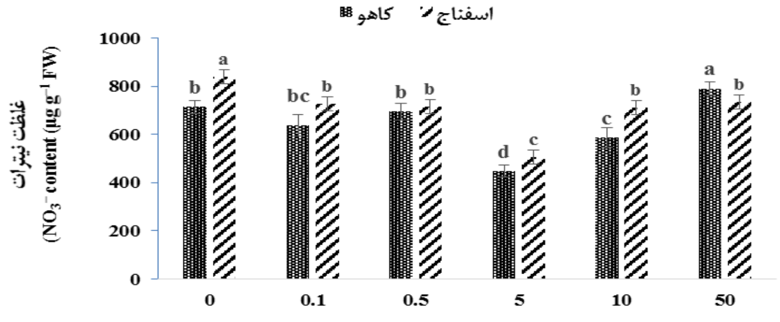
منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
		غلظت نیترات کاهو Nitrate concentration of lettuce	غلظت نیترات اسفناج Nitrate concentration of spinach	فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز کاهو Nitrate reductase activity of lettuce	فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز اسفناج Nitrate reductase activity of spinach	فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز کاهو Nitrite reductase activity of lettuce
تیمار سلنیوم Selenium treatment	5	142.98**	74.5*	282.12*	210.52*	14.8**
خطا Error	12	0.53	7.8	32.11	74.06	4.35
ضریب تغییرات CV (%)	-	9.21	12.32	4.74	16.1	21.34

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
		فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز اسفناج Nitrite reductase activity of spinach	فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز کاهو Glutamine synthetase activity of lettuce	فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز اسفناج Glutamine synthetase activity of spinach	فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کاهو Glutathione peroxidase activity of lettuce	فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اسفناج Glutathione peroxidase activity of spinach
تیمار سلنیوم Selenium treatment	5	1.93*	0.005**	8.65*	4.96*	37.56*
خطا Error	12	12.41	0.022	0.017	0.019	3.96
ضریب تغییرات CV (%)	-	6.47	4.66	23.57	2.73	15.12

ns: عدم معنی‌داری، **: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و * اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

ns: non-significant, **: significant at 1% of probability level, *: significant at 5% of probability level.

کاهش غلظت نیترات در بـرگ پیـاز پـس از کـاربرد سـلنیوم بـا مطالعات انجام شده توسط ریوس و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه کـاهو و اسفناج مطابقت دارد. کاهش غلظت نیتـرات پـس از کـاربرد سـلنیوم ممکن است به دو دلیل باشد. نخست، اثر منفی سلنیوم بر ناقلین غشـا و اثر آنتاگونیسـتی بـین دو آنیـون باشـد. دلیـل دوم مـی‌توانـد القـاء آسیمیلاسیون نیترات توسط افزایش فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز باشد (۲۹).

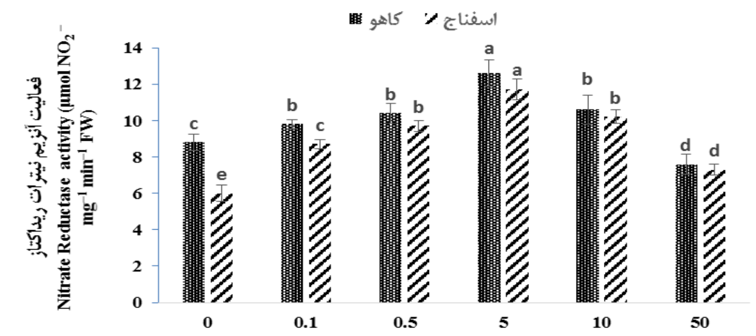


شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر غلظت نیترات در اسفناج و کاهو

Figure 1- Effect of different concentrations of selenium on nitrate content in spinach and lettuce (LSD, p≤0.05)

فعالیـت آنـزیم نیتـرات ریـدوکتاز، نیتریـت ریـداکتاز و گلوتامین سنتتاز

کاهش نیترات به نیتریت اولین قدم در متابولیسم نیترات است که بوسیله آنزیم نیترات ریداکتاز کاتالیز می‌شود. در هر دو گیـاه، افـزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در سـطح ۵ درصـد در تیمـار ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد (شکل ۲). کمترین فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در کاهو و اسفناج، به ترتیب متعلق به تیمار ۵۰ میکرومول بر لیتر و صفر (شاهد) بود. اما به طور کلی در تمام تیمارها، فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در کاهو بیشـتر از اسـفناج بـود. مطالعـات قبلـی هـم گزارش کردند که کاربرد سلنیوم با تحریک و افـزایش فعالیـت آنـزیم نیترات ریداکتاز باعث کاهش تجمع نیتـرات در جـو (۱) و آفتـابگردان (۳۰) می‌شود.

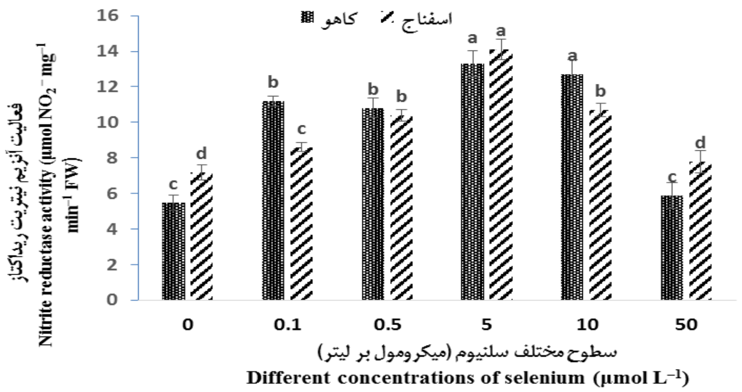


شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز اسفناج و کاهو

Figure 2- The effect of different concentrations of selenium on nitrate reductase activity in spinach and lettuce (LSD, p≤0.05)

یکی از فاکتورهای اولیه تنظیم فعالیـت نیتـرات ریـداکتاز، میـزان نیترات است. حضور نیترات میزان mRNA نیترات ریداکتاز را افزایش داده و باعث تحریک سنتز این آنزیم می‌شـود. نیتـرات در سیتوزول سلول‌ها از طریق آنزیم نیترات ریداکتاز به نیتریت تبـدیل مـی‌شـود و اولین مرحله از مسیر متابولیکی آسیمیلاسیون نیترات در گیاهان است که با کمک این آنزیم انجام می‌گردد. در واقع سلنیوم با کاهش فعالیت ناقلین نیترات و افزایش فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز منجر به کاهش میزان نیترات برگ می‌شود (۲۹). سـلنیوم مـی‌توانـد جـذب برخـی از

عناصر ریزمغذی مثل مولیبدن را که به عنـوان یـک کوفـاکتور بـرای آنزیم نیترات ریداکتاز عمل می‌کند را تغییر دهد. بنـابراین، سـلنیوم در غلظت‌های زیاد ممکن است در آسیمسلاسیون نیتروژن تداخل ایجـاد کند (۱۵).

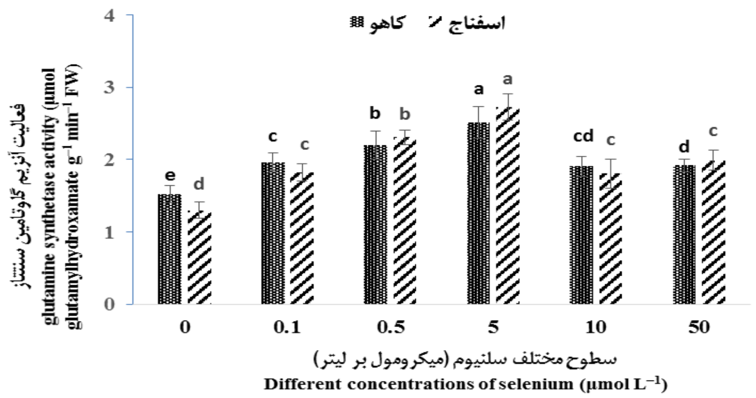


شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز اسفناج و کاهو

Figure 3- The effect of different concentrations of selenium on nitrite reductase activity in spinach and lettuce (LSD, p≤0.05)

واکنش آنزیم نیتریت ریداکتاز بـه کـاربرد سـلنیوم مشـابه آنـزیم نیترات ریداکتاز بود. بطوری‌که بیشترین فعالیت ایـن آنـزیم در هـر دو گیاه، در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلنیوم مشـاهده شـد (شـکل ۳). آسیمیلاسیون نیترات در برگ‌ها تابع عملکرد نیتریت و آنزیم نیتریـت ریـداکتاز بـرای تولیـد آمونیـوم و سـپس جـذب آن از طریـق مسـیر آنزیم‌های گلوتامین سنتتاز و گلوتامات سنتتاز است. عملکرد این مسیر بستگی به تولید گلوتامات دارد که منبع کربن و انرژی در بیوسنتز اکثر اسیدهای آمینه است (۱۲). آسیمیلاسیون نیترات علاوه بـر اینکـه بـا فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز تنظیم می‌شود، تحت تاثیر متابولیت‌هایی مثل نیتریت و آمونیوم است. بنابراین آسیملاسیون نیترات بطـور غیـر مستقیم تحت تاثیر فعالیت آنـزیم‌هـای نیتریـت ریـداکتاز و گلوتـامین سنتتاز نیز هست (۱۲).

فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز در هر دو گیـاه اسـفناج و کـاهو بـا افزایش غلظت سلنیوم روند افزایشی داشته بطوری‌که بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلنیوم مشاهده شـد. امـا بـا افزایش غلظت (غلظت بیشتر از ۵ میکرومول بـر لیتـر)، فعالیـت ایـن آنزیم شروع به کاهش نمود. (شـکل ۴). فعالیـت ایـن آنـزیم در تمـام تیمارها در هر دو گیاه بیشتر از شاهد بود. به طور کلی در این مطالعه، غلظت‌های بیشتر از ۵ میکرومول بر لیتر باعث کاهش معنی‌دار فعالیت هر سه آنزیم نیترات ریداکتاز، نیتریت ریداکتاز و گلوتـامین سـنتتاز در سطح احتمال ۵ درصد شـد. بـا ایـن حـال، ریـوس و همکـاران (۲۹) گزارش کردند که سلنیوم حتی در غلظت ۱۲۰ میکرومول بر لیتـر بـه طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت آنـزیم‌هـای نیتریـت ریـداکتاز و گلوتامین سنتتاز شد. این داده‌ها نشان مـی‌دهـد کـه کـاربرد سـلنیوم می‌تواند فعالیت آنزیم‌های دخیل در کاهش و احیای نیتروژن را تعدیل کرده و این عملکرد بستگی به غلظت به کار رفته دارد.

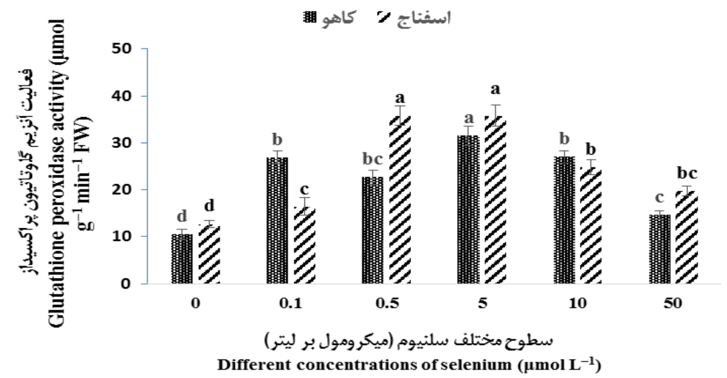


شکل ٤- تاثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز در اسفناج و کاهو

Figure 4- The effect of different concentrations of selenium on glutamine synthetase activity in spinach and lettuce (LSD, p≤0.05)

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

افزایش معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلنیوم نسبت به سایر تیمارها در کاهو مشاهده شد. اما در اسفناج تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد در فعالیت این آنزیم در غلظت‌های ۵ و ۰/۵ میکرومول بر لیتر مشاهده نشد (شکل ۵).



شکل ۵- تاثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اسفناج و کاهو

Figure 5- The effect of different concentrations of selenium on glutathione peroxidase activity in spinach and lettuce (LSD, $p \leq 0.05$)

هرچند سمیت سلنیوم در غلظت‌های بالا برای گیاهان کاملا محرز بوده و نوعی تنش محسوب می‌گردد ولی اثرات سودمند غلظت‌های پایین سلنیوم در حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی، گونه‌های فعال اکسیژن و فعال‌سازی مکانیسم‌های کاهنده تنش‌های اکسیداتیو در پژوهش‌های متفاوتی گزارش شده است (۳۳). افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌ها در اثر استفاده از سلنیوم به کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز مرتبط دانسته شده است (۴۴). هر چند هنوز سلنیوم در ساختار آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گیاهی یافت نشده ولی اعتقاد بر این است که سلنیوم موجب افزایش فعالیت این آنزیم می‌شود. در بعضی موارد کاهش میزان سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان تیمار شده با سلنیوم گزارش شده است که می‌تواند به علت افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز باشد. بدین معنی که با افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نیاز به سایر آنزیم‌ها و مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی برای حذف رادیکال‌های آزاد کم می‌شود (۴۴).

جنگیرامن و همکاران (۸) نشان دادند که سلنیوم باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می شود. علاوه بر این، تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که سلنیوم نقش حفاظتی در برابر تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان عالی از طریق افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها دارد (۴). افزودن غلظت کم سلنیوم، تنش اکسیداتیو را در کاهو و چچم (۴۴) کاهش داد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که غلظت‌های مختلف سلنیوم، تاثیر معنی‌داری بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و تجمع نیترات در کاهو و اسفناج داشت. نتایج نشان داد که تاثیر سلنیوم بر ظرفیت فتوسنتزی و رشد گیاه کاهو و اسفناج وابسته به غلظت بود و غلظت بهینه ۵ میکرومول بر لیتر بود. کاربرد سلنیوم بدلیل تحریک آسیمیلاسیون نیترات باعث کاهش تجمع نیترات در هر دو گیاه شد. همچنین سلنیوم در غلظت بهینه باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های نیترات ریداکتاز، نیتریت ریداکتاز و گلوتامین سنتتاز و بنابراین تحریک آسیمیلاسیون نیترات و کاهش تجمع نیترات شد. بنابراین استفاده از سلنیوم (۵ میکرومولار در لیتر) باعث کاهش نیترات و افزایش کیفیت و عملکرد کاهو و اسفناج در شرایط هیدروپونیک می‌شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان به علت کمک در انجام آنالیزهای تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1- Aslam M., Harbit K.B., and Huffaker R. 1990. Comparative effects of selenium and selenate on nitrate assimilation in barley seedlings. Plant, Cell and Environment 13: 773–782.
2- Bian Z.H., Cheng R.F., Yang Q.C., Wang J., and Lu C.G. 2016. Continuous light from red, blue, and green light-emitting diodes reduces nitrate content and enhances phytochemical concentrations and antioxidant capacity in lettuce. Journal of American Society for Horticultural Science 141: 186–195.
3- Bian Z.H., Lei B., Cheng R.F., Wang Yu., Li T., and Yang Q.C. 2020. Selenium distribution and nitrate metabolism in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.): Effects of selenium forms and light spectra. Journal of Integrative Agriculture 19: 133–144.
4- Cartes P., Gianfreda L., and Mora M.L. 2005. Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenite and selenium forms. Plant and Soil 276: 359–367.
5- Champigny M.L. 1995. Integration of photosynthetic carbon and nitrogen metabolism in higher plants. Photosynthesis Research 46: 117–127.
6- Chen B.M., Wang Z.H., Li S.X., Wang G.X., Song H.X., and Wang X.N. 2004. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. Plant Science 167: 635-643.
7- Chen T.F., Zheng W.J., Luo Y., Yang F., Bai Y., and Tu F. 2005. Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 31: 369-373.
8- Djanaguiraman M., Devi D.D., Shanker A.K., Sheeba A., and Bangarusamy U. 2005. Selenium an antioxidative protectant in soybean during senescence. Plant and Soil 272: 77-86.
9- Dordas C.A., and Sioulas C. 2008. Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. Industrial Crops and Products, 27: 75-85.
10- Dziubinskaa H., Filekb M., Krol E., and Trebacz K. 2010. Cadmium and selenium modulate slow vacuolar channels in rape (*Brassica napus*) vacuoles. Journal of Plant Physiology 167: 1566–1570.
11- Feng R., Wei C., and Tu S. 2013. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. Environmental and Experimental Botany 87: 58–68.
12- Forde B.G., and Lea P.J., 2007. Glutamate in plants: Metabolism, regulation, and signaling. Journal of Experimental Botany 58: 2339–2358.
13- Germ M., Stibilj V., and Kreft I. 2007. Metabolic importance of selenium for plants. The European Journal of Plant Science and Biotechnology 1: 91-97.
14- Han-Wens S., Jing H., and Wei-Jun K. 2010. Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. Communications in Soil Science and Plant Analysis 41: 1195-1204.
15- Harris J., Schneberg K.A., and Pilon-Smits E.A. 2014. Sulfur-selenium-molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator Stanleya pinnata from non-hyperaccumulator Brassica juncea (*Brassicaceae*). Planta 239: 479–491.
16- Hawrylak B., Matraszek R., and Szynanska M. 2007. Response of lettuce *(Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. Vegetable Crops Research Bulletin 67: 63-70.
17- Hawrylak-Nowak B. 2008. Changes in anthocyanin content as indicator of maize sensitivity to selenium. Journal of Plant Nutrition 31: 1232–1242.
18- Jahid A.M., Kumar S., Thakur P., Sharma S., Kau Raman Preet N., Kaur D.P., Bhandhari K., Kaushal N., Singh K., Srivastav A., and Nayyar H. 2010. Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus Roxb*.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. Biological Trace Element Research 143: 530-539.
19- Jozwiak W., Mleczek M., and Politycka B. 2016. The effect of exogenous selenium on the growth and photosynthetic pigments of cucumber seedlings. Fresenius Environmental Bulletion 25: 142–152.
20- Kaiser J.J., and Lewis O.A.M. 1984. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in leaves and roots of nitrate-fed *Helianthus annuus* L. Plant and Soil 70: 127–130.
21- Kieliszek M., and Blazejak S. 2013. Selenium: Significance, and outlook for supplementation. Nutrition 29: 713–718.
22- Lei B, Bian Z.H, Yang Q.C., Wang J., LI Kun1, Liu W., Zhang Y., Fang H., and Tong Y. 2018. The positive function of selenium supplementation on reducing nitrate accumulation in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.). Journal of Integrative Agriculture 17: 837–846.
23- Liu D.D., Li H., Wang Y.Z., Bian Z.W., Zhu W.L., Liu W., Yang L.F., and Jiang D.H. 2017. How exogenous selenium affects anthocyanin accumulation and biosynthesis-related gene expression in purple lettuce. Polish Journal of Environmental Studies 26: 717–722.
24- Malorgio F., Diaz k., and Ferrante A. 2009. Effects of selenium addition on minimally processed leafy vegetables grown in a floating system. Journal Science Food and Agriculture, 89: 2243–2251.
25- Nickel R.S., and Cunningham B.A. 1969. Improved peroxidase assay method using Ieuco 2,3,6-

trichloroindophenol and application to comparative measurements of peroxidase catalysis. Annals of Biomedical Engineering 27: 292-299.

26- Nowak J., Kaklewski K., and Ligocki M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. Soil Biology and Biochemistry 36: 1553–1558.

27- Padmaja K., Prasad D.D.K., and Prasad A.R.K. 1989. Effect of selenium on chlorophyll biosynthesis in mung bean seedlings. Phytochemistry 28: 3321-3324.

28- Rani N., Dhillon K.S., and Dhillon S K. 2005. Critical levels of selenium in different crops grown in an alkaline silty loam soil treated with selenium-Se. Plant Soil, 277, 367–374.

29- Rios J.J., Blasco B., Rosales M.A., Leyva R., Cervilla L.M., Romero. L., and Ruiz J M. 2010. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. Journal of American Society for Horticultural Science 90: 1914–1919.

30- Ruiz J.M., Rivero R.M., and Romero L. 2007. Comparative effect of Al, Se, and Mo toxicity on NO_3^- assimilation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. Journal of Environmental Management 83: 207–212.

31- Saffaryazdi A., Lahouti M., Ganjeali A., and Bayat H. 2012. Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleracea* L.) Plants. Natulae Scientia Biologicae 4: 95-100.

32- Santamaria P. 2006. Nitrate in vegetables: Toxicity, content, intake and EC regulation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 10–17.

33- Seppanen M., Turakainen M., and Hartikainen H. 2003. Selenium effects on oxidative stress in potato. Plant Science, 165: 311-319.

34- Schiavon M., Acqua S.D., Mietto A., Pilon-Smits E.A.H., Sambo P., Masi A., and Malagoli M. 2013. Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 61: 10542−10554.

35- Sharma S., Bansal A., Dhillon S.K., and Dhillon, K.S. 2010. Comparative effects of selenate and selenite on growth and biochemical composition of rapeseed (*Brassica napus* L.). Plant Soil 329: 339–348.

36- Shekari L., Kamelmanesh M.M., Mozafariyan M., Hasanuzzaman M., and Sadeghi F. 2017. Role of selenium in mitigation of cadmium toxicity in pepper grown in hydroponic condition. Journal of Plant Nutrition 40: 761–772.

37- Schwarz K., and Foltz C.M. 1957. Selenium as an integral part of Factor 3 against dietary degeneration. Journal of the American Chemical Society 79: 3292–3293.

38- Singh J.P. 1988. A rapid method for determination of nitrate in soil and plant extract. Plant and Soil 11: 137-139.

39- Smolen S., and Sady W. 2009. The effect of various nitrogen fertilization and foliar nutrition regimes on the concentrations of sugars, carotenoids and phenolic compounds in carrot (*Daucus carota* L.). Scientia Horticulturae 120: 315–324.

40- Sun H.Y., Wang X.Y, Dai H.X, andWu F.B. 2013. Effect of exogenous glutathione and selenium on cadmiuminduced changes in cadmium and mineral concentrations and antioxidative metabolism in maize seedlings. Asian Journal of Chemistry, 25, 2970–2975.

41- Stewart G.R., Lee, J.A., and Orebamjo, T.O. 1972. Nitrogen metabolism of halophyte: Nitrate reductase activity and utilization. New Phytologist 72: 539-546.

42- Takeda T., Kondo K., Ueda K., and Iida A. 2016. Antioxidant responses of selenium-enriched broccoli sprout (*Brassica oleracea*) to paraquat exposure. Biomedical Research on Trace Elements 27: 8-14.

43- Wu L., and Huang Z.Z. 1991. Chloride and sulfate salinity effects on selenium accumulation by Tall Fescue. Crop Science Society of American 31: 114-118.

44- Xue T., Hartikainen H., and Piironen V. 2001. Antioxidative and growth promoting effect of selenium in senescing lettuce. Plant Soil 237: 55-61.

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 321-334
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۳۳۴-۳۲۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Positive Effect of Selenium on Nitrate Accumulation in Spinach (*Spinacia oleracea* L.) and Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

M. Jalali[1*]- N. Salehi Chegeni[2]
Received: 15-04-2020
Accepted: 09-06-2020

Introduction: High nitrate (NO_3^-) in vegetables, especially in leafy vegetables poses threaten to human health. Selenium (Se) is an important element for maintaining human health, and exogenous Se application during vegetable and crop production is an effective way to prevent Se deficiency in human bodies. Exogenous Se shows a positive function on plant growth and nutrition uptake under abiotic and biotic stresses. However, the influence of exogenous Se on NO_3^- accumulation in hydroponic leafy vegetables is still not clear.

Materials and Methods: The present study was conducted in a completely randomized design with four replications at Research Greenhouse of Lorestan University. In this study, hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L. var. Grin leek) and spinach (*Spinacia oleracea* L. var. Sirius) plants were subjected to six different concentrations (0, 0.1, 0.5, 5, 10 and 50 μmol L^{-1}) of Se as Na_2SeO_3. Zero concentration was considered as control. The modified Hoagland nutrient solution were prepared and 8 liters was added to each pot. The nutrient solutions were replaced with fresh solution every five days throughout this experiment. After the emergence of new roots in the nutrient solution, treatment was applied and selenium was added to the pots at a specific concentration. After Se treatment for 40 days, three plants were randomly harvested from each treatment. The effects of Se on plant growth, NO_3^- content, activities of nitrogen metabolism enzymes, photosynthetic capacity and glutathione peroxidase enzyme activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and spinach (*Spinacia oleracea* L.) were investigated. The second youngest, fully expanded leaf was used to monitor photosynthetic capacity using chlorophyll meter and portable photosynthetic apparatus, respectively. Nitrate concentration in dried samples was determined based on nitrate to nitrite reductions in the vicinity of zinc powder and hydrogen ion. Data preparation was done in the Excel program and data analysis was done using SPSS 16 software. The means comparison of the treatments was done by LSD test and finally, the figures were drawn using MS Excel.

Results and Discussion: The results showed that the lowest and highest biomass in both plants were observed in 50 and 5 μmol L^{-1} Se treatments, respectively. Different levels of selenium had no significant effect on root fresh weight in spinach. However, in the lettuce, at 50 μmol L^{-1}, the root fresh weight significantly decreased compared to the 5 μmol L^{-1}. Moreover, exogenous Se positively decreased NO_3^- content and this effect was concentration-dependent. The lowest NO_3^- content was obtained under 5 μmol L^{-1} Se treatment.NO_3^- content in lettuce was lower than that of spinach in all treatments. The application of Se enhanced photosynthetic capacity by increasing the stomatal conductance, photosynthesis rate and chlorophyll content of plants. No significant difference ($p \leq 0.05$) was observed in spinach in chlorophyll, stomatal conductance and photosynthetic rate between 10 and 5 μmol L^{-1}, however, in lettuce this difference was significant. Chlorophyll content in lettuce was higher than spinach in all treatments. The best concentration for photosynthetic capacity in both plants was five μmol L^{-1}, which could explain similar changes in root and shoot dry weight in the different treatments. The results showed that low selenium concentrations (≤5 μmol L^{-1}) stimulated NO_3^- assimilation by enhancing nitrate reductase (NR), nitrite reductase (NiR) and glutamine synthetase (GS) activities. The lowest nitrate reductase activity in lettuce and spinach was 50 μmol L^{-1} and control, respectively. In all treatments, nitrate reductase activity in lettuce was higher than in spinach. The reaction of nitrate reductase to selenium application was similar to nitrate reductase activity. Glutamine synthetase activity in both plants increased with increasing selenium concentration. However, as the concentration increased (≥ 5 μmol L^{-1}), the activity of this enzyme began to decrease. In addition, the activity of this enzyme was higher than control in all treatments. Selenium also increased glutathione peroxidase concentration. A significant increase in glutathione peroxidase activity at five μmol L^{-1} was observed compared to the other treatments in lettuce. However, there was no significant difference in the activity of this enzyme in spinach at concentrations of 5 and 0.5 μmol L^{-1}.

Conclusion: These results provided direct evidence that exogenous Se showed positive function on

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc. Student, Department of Soil Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: jalali.mah@lu.ac.ir)

decreasing NO_3^- accumulation via enhancing activities of nitrogen metabolism enzyme in both plants. This study suggested that five μmol L^{-1} Se could be used to reduce NO_3^- content and increased hydroponic lettuce and spinach yield.

Keywords: Nitrate, Nitrogen metabolism enzyme, Photosynthetic parameters, Selenium